

PREPARATION OF 7S PROTEIN

Patent number: JP55124457
Publication date: 1980-09-25
Inventor: KOSHIYAMA IKUNORI; others: 01
Applicant: NODA SANGYO KAGAKU KENKYUSHO
Classification:
- international: A23J1/14
- european:
Application number: JP19790031168 19790319
Priority number(s):

Report a data error here

Abstract of JP55124457

PURPOSE: To obtain 7S proteins (P) in simple procedures efficiently, by extraction of P from soybeans at a specific pH, and by precipitation of the extract at an isoelectric point.

CONSTITUTION: Soybeans or defatted soybeans (B) directly or pulverized are incorporated with water or a salt solution, e.g. sodium or potassium chloride, in an amount of 10-20 times that of B, and adjusted to a pH 5.40-5.85, preferably 5.60-5.80, with acetic or hydrochloric acid, and proteins are extracted with stirring if necessary. The extract thus obtained is centrifuged to remove a precipitation fraction consisting mainly of 11S proteins. The supernatant is adjusted to pH4.5, and subjected to precipitation at an isoelectric point. The pH of the resulting precipitated proteins are made neutral, and subjected by gel or ultrafiltration to remove low-molecular protein fractions, e.g. 2S proteins.

Data supplied from the esp@cenet database - Patent Abstracts of Japan

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭55—124457

⑤ Int. Cl.³

A 23 J 1/14

識別記号

庁内整理番号

7258—4 B

④ 公開 昭和55年(1980)9月25日

発明の数 1

審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 7s蛋白質の製造法

⑫ 発明者 福島男児

アメリカ合衆国 Wisconsin
州 53147 レイクジェノバ・ミラ
ーロード 1718

⑪ 特 願 昭54—31168

⑩ 出 願 昭54(1979)3月19日

⑫ 発明者 越山育則

流山市江戸川台東3丁目281番
地⑩ 出 願 人 財団法人野田産業科学研究所
野田市野田399番地

明 細 書

1. 発明の名称

7s蛋白質の製造法

2. 特許請求の範囲

大豆又は脱脂大豆をそのままか粉砕したものに、水もしくは塩類溶液を加え pH 5.40～5.85 の範囲で蛋白質を抽出し、該抽出液を pH 4.5 で等電沈澱させて得られる沈澱蛋白質を、ゲル濾過もしくは限外濾過し、低分子蛋白質区分を除去することを特徴とする 7s蛋白質の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は 7s蛋白質の製造法に関し、その目的とするところは大豆類より大豆の主要構成蛋白質の一種である 7s蛋白質を極めて簡単な操作で、しかも収率良く製造する方法を提供することにある。

大豆に含有される蛋白質の約 90% は、貯蔵形態の蛋白質で 2s、7s、/ / s 及び / s の 4 種の沈澱成分より構成されており、これらのうち

7s 及び / / s の成分は前記貯蔵形態の蛋白質の約 70% を占めることが知られている。

上記 7s蛋白質のカルシウムゲル又は加熱ゲルは、極めて保水性が高く柔い物性である為、食品加工用の素材として極めて有用である。

当食品業界に於いては、大豆蛋白質より 7s蛋白質のみを経済的に、しかも収率良く得ることの出来る分画法の開発が強く望まれている。

そこで本発明者らは大豆 7s蛋白質を経済的に得ることを目的として、大豆貯蔵蛋白質(大豆グロブリン)の等電点(pH 4.5)よりアルカリ性側に於ける等電沈澱機構に関し鋭意検討を重ねた結果、大豆蛋白質を pH 5.40～5.85 とする特定の pH 範囲で抽出したのち、その上清区分を pH 4.5 で等電沈澱させ、次いで該沈澱区分をゲル濾過もしくは限外濾過で分画処理することにより、2s蛋白質等の低分子区分を除去し 7s蛋白質のみを簡易な操作で、しかも効率良く得ることが出来ることを知り、本発明を完成した。

すなわち本発明は、大豆又は脱脂大豆をそのま

まか粉砕したものに、水もしくは塩類溶液を加え、 $\text{pH } 4.0 \sim 5.8$ の範囲で蛋白質を抽出し、該抽出液を $\text{pH } 4.5$ で等電沈澱させて得られる沈澱蛋白質を、ゲル濾過もしくは限外濾過し、低分子蛋白質区分を除去することを特徴とする 78 蛋白質の製造法である。

以下本発明に係る 78 蛋白質の製造法について詳述する。

本発明に用いられる製造原料としては、如何なる種類の大豆でも良く、先ず大豆又はこれを常法により脱脂した脱脂大豆を、そのまま又は粉砕し、これらに対し 10~20 倍量の水もしくは塩化ナトリウム、塩化カリ等の塩類溶液を加え、これを酢酸、塩酸、硫酸等で $\text{pH } 4.0 \sim 5.8$ 、好ましくは $\text{pH } 5.60 \sim 5.80$ に調整し、必要により攪拌しつつ蛋白質を抽出する。

この際抽出時の pH が 5.8 を超えるような場合、殊に $\text{pH } 6.0$ 以上になると / / 8 蛋白質の混入量が著しく増加する為目的とする 78 蛋白質の収量が著しく減少し、一方該 pH が 5.40 未満の場合には

- 3 -

次に上記溶解液もしくはその濃縮液を、セフデックス R-100、R-150、R-200 (スウェーデン、ファーマシヤ社製)、セフアロズ B (スウェーデン、ファーマシヤ社製)、バイオゲル P-100、P-150、P-200 (米国、バイオラド社製) 等のカラムを用いてゲル濾過するか、又はダイアフロー膜 $\text{XM } 50$ 、 $\text{XM } 100 \text{A}$ 、 $\text{XM } 300$ (米国、アミコン社製) 等を用いて限外濾過し、28 蛋白質等の低分子蛋白質区分を除去して 78 蛋白質区分のみを採取し、これを水で充分透析したのち、常法により凍結乾燥等により乾燥し本発明の精製 78 蛋白質製品を得る。

本発明により得られる精製 78 蛋白質は、超速心分析法 (培風館、生物物理化学実験法、9~29 頁 (1962 年) に記載の方法) に準じて測定した結果、第 1 図-(A) (0.4 M の塩化ナトリウムを含む $0.0 / \text{M}$ 磷酸緩衝液 ($\text{pH } 7.6$ 、イオン強度 0.5) 中の沈降図) に示す如く 78 の沈降定数 ($S_{20, w}^{0.40} = 7.55 \text{ S}$) を持つ単一の沈降パターンを示し、又

- 5 -

特開昭 55-124457 (2)

/ / 8 蛋白質の混入量は減少しても、抽出される蛋白質の純度が極度に減少する為必然的に 78 蛋白質の収量も減少し、何れも本発明に於いては採用し得ない条件である。

次に前記抽出蛋白質を $20,000 \sim 30,000 \text{ r.p.m.}$ で 20~30 分間遠心分離し、/ / 8 蛋白質成分を主体とする沈澱区分を除去したのち、該上清区分を前述の酢酸、塩酸、硫酸等で pH を 4.5 に調整して等電沈澱させ、さらに該沈澱区分を遠心分離し、その沈澱区分を採取する。

次いで該沈澱蛋白質区分の pH を中性にもどしたのち、これを常法により乾燥して製品化しても良いが、精製された 78 蛋白質製品を所望する場合には以下の工程により精製する。

すなわち、前記等電沈澱蛋白質区分を $0.0 / \text{M}$ 磷酸緩衝液 ($\text{pH } 7.6$) に溶解するか、又は該溶解液をダイアフロー膜 (米国、アミコン社製)、コロジオン膜 (西独、ザルトリウス・メンブランフィルター社製) 等の分子ふるい膜により透過し濃縮する。

- 4 -

第 1 図-(B) ($0.0 / \text{M}$ 磷酸緩衝液 ($\text{pH } 7.6$ 、イオン強度 0.1) 中の沈降図) に示す如く、 $\text{pH } 7.6$ でイオン強度 0.5 から 0.1 への変化に対し 78 から 98 への沈降定数 ($S_{20, w}^{0.50} = 10.62 \text{ S}$) の変化を示す。

そして本発明の 78 蛋白質を、従来の 78 蛋白質 (I. Koshiyama Agr. Biol. Chem. 29 885 (1965 年)) と比較する為、免疫拡散法 (松橋直、白井美津子、成田秀雄「化学と生物」9 25~31 (1971 年)) により検定した結果、第 2 図に示す如く本 78 蛋白質 (a) 及び上記従来の 78 蛋白質 (b) と抗体血清 (A)、前記 (b) に対して家兎に作成した抗体血清) との間に生ずるゲル内沈降線が完全に融合することより、本発明に係る 78 蛋白質は従来のものと同一であることが確認された。

本発明によれば、蛋白抽出時に特定な pH を採択するのみで、極めて簡易な操作で、しかも効率良く、食品加工用素材として極めて有用な 78 蛋白質を得ることが出来、本発明は産業上極めて有用

- 6 -

である。

以下実施例により本発明を具体的に示す。

実施例 1

粉碎した脱脂大豆300gに3Lの水を加え、濃水酢酸でpH5.80に調整し、60分間室温で攪拌して蛋白質成分を抽出する。次いで該抽出液をガーゼで濾過して抽出残渣を除去したのち、抽出液を18,000r.p.m.で60分間遠心分離し、該残渣を完全に除去して27Lの抽出液を得た。該抽出液のpHを濃水酢酸でpH4.5とし、沈澱した蛋白質区分を3,000r.p.m.で20分間遠心分離して採取した。該沈澱区分を500mlの0.01M磷酸緩衝液(pH7.6)に溶解し、不溶性蛋白質区分を18,000r.p.m.で30分間遠心分離し除去して得られる上清液をダイヤフロ-膜PM-10(米国、アミコン社製)で濃縮し、濃縮液150mlを得た。次いでこれを0.01M磷酸緩衝液(pH7.6)で緩衝化したセファデックスG-100(スウェーデン、ファーマシヤ社製)のカラム(5×90cm)に充填し、前記緩衝液(pH7.6)でゲル濾過しフ

- 7 -

濾過し、該濾液をダイヤフロ-膜PM-10(米国、アミコン社製)で50mlに濃縮し、これを0.01M磷酸緩衝液(pH7.6)で緩衝化したセファデックスG-100(スウェーデン、ファーマシヤ社製)のカラム(5×90cm)に充填し、前記緩衝液(pH7.6)でゲル濾過しフラクションコレクターで15mlずつ分取し底30~35に於ける溶出区分を集め、これを水に透析後、凍結乾燥して精製7S蛋白質製品36gを得た。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明により得られた精製7S蛋白質の超速心沈降図を示すもので、第1図-(A)は0.4M塩化ナトリウムを含む0.01M磷酸緩衝液(pH7.6、イオン強度0.5)、第1図-(B)は0.01M磷酸緩衝液(pH7.6、イオン強度0.1)に於ける、夫々超速心沈降図である。

第2図は、本発明に係る精製7S蛋白質及び既知の7S蛋白質(I. Koshiyama Agr. Biol. Chem. 29 885 (1965年))と抗体血清との免疫拡散法(松橋直、白井美津子、成田秀雄「化学と生

- 9 -

特開昭55-124457(3)

ラクションコレクターで15mlずつ分取し、底30~40に於ける溶出区分を集め、これを水に透析後凍結乾燥して精製7S蛋白質製品31.8gを得た。

得られた7S蛋白質は超速心分析法による分析結果より均一なものであり、又使用原料大豆グロブリンの全7S蛋白質量に対し、67.3%の収率であつた。

実施例 2

粉碎した脱脂大豆100gに0.5M塩化ナトリウム溶液を加えて懸濁し、塩酸でpHを5.60に調整し、60分間室温で攪拌して蛋白質成分を抽出する。次いで該抽出液をガーゼで荒く濾過し残渣を除去したのち、抽出液を18,000r.p.m.で60分間遠心分離して残渣を除去し、上清液900mlを得た。該上清液のpHを4.5にし等電沈澱させた沈澱蛋白質区分を3,000r.p.m.で15分間遠心分離し採取した。該沈澱区分を200mlの0.01M磷酸緩衝液(pH7.6)に溶解した溶液をダイヤフロ-膜EM-300(米国、アミコン社製)で

- 8 -

物」9/25~13/(1971年))によるゲル内沈降図である。

特許出願人 財団法人 野田産業科学研究所

- 10 -

特開昭55-124457(4)

第 1 回

第 2 回

(A)

(B)

